

塩素ガスを吸入させたラットの急性呼吸不全に 対するサーファクタント補充療法

金沢大学医学部麻酔・蘇生学講座 (主任: 小林 勉教授)

李 文 志

塩素ガスの吸入により急性呼吸不全を呈した成熟ラット (体重 250-350g) 30匹を用い、サーファクタント補充療法の効果を検討した。ペントバルビタールの腹腔内投与でラットを麻酔した後、気管切開孔より挿管した。純酸素を用い、最大吸気圧を 20cmH₂O、終末呼気圧を 5cmH₂O に設定した従圧式人工呼吸を行ったうえ、380-500ppm の塩素ガスを210秒間吸入させた。吸入40分後には、成人呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome, ARDS) とみなし得る呼吸不全が発症した。すなわち、動脈血酸素分圧 (arterial oxygen pressure, PaO₂) は 525±41mmHg (平均値±標準偏差) から 99±36mmHg に低下し ($p<0.01$)、2.5±2.0ml/kg の肺水腫液が気管内吸引により採取されるようになった。この時点で、動物を無作為に对照群と治療群に分けた。对照群 ($n=15$) に対しては、特別な治療を行わなかった結果、実験終了時 (群分け後140分) に至るまで、PaO₂ の平均値は 90mmHg 以下にとどまった。治療群 ($n=15$) に対しては、サーファクタント補充療法を行った。すなわち、ブタの肺から抽出した天然加工型サーファクタントを生理食塩水に分散して 100mg/ml の濃度に調整し、それを 0.5ml あて経気道的に注入した。その結果、PaO₂ は時間経過とともに上昇し、80分目以降の値は对照群との間に有意差 ($p<0.05$) を示すようになり、140分目の値は 253±141mmHg に達した。群分けから実験終了時まで生存した動物の数は、对照群で15匹中4匹に過ぎなかったが、治療群では15匹中12匹であり、両群間の生存率には有意差 ($p<0.002$) が認められた。組織学的検索においても、对照群に比べ、治療群では肺胞含気量が多く、肺間質における白血球の浸潤が少ない ($p<0.001$) という所見を得た。以上の結果から、塩素ガスの吸入により、ARDS に類似した急性呼吸不全が生ずると結論された。このような呼吸不全に対して、サーファクタント補充療法は、血液ガス所見や生存率を好転させ、肺組織が破壊される度合を減少させると結論された。

Key words chlorine gas, respiratory failure, adult respiratory distress syndrome, positive end-expiratory pressure, surfactant replacement

塩素ガスを誤って吸入すると、濃度が 30ppm 前後の場合でも肺水腫を伴った急性呼吸不全が発生し¹⁾、60ppm 以上の場合は放置されると短時間で死に至る²⁾。このような事故は、化学工場や浄水場などで時として発生しており^{3)~6)}、一般家庭でも塩素系漂白剤と酸性洗剤を誤って混合した場合に発生する⁷⁾。

塩素ガスによる呼吸不全の治療には、酸素吸入や人工呼吸療法、ステロイドおよび気管支拡張薬の投与などが用いられており^{8)~9)}、とくに終末呼気陽圧 (positive end-expiratory pressure, PEEP) を付加した人工呼吸は低酸素血症や肺水腫の改善に有効であると報告されている¹⁰⁾。事実、著者らも、致死濃度の5倍にあたる 300ppm の塩素ガスを吸入させたラットの低酸素血症や肺水腫が、PEEP を付加した人工呼吸で有意に改善できることを確認している¹¹⁾。しかし、380ppm 以上の濃度の塩素ガスを吸入させたラットの場合、従来の治療法では、呼吸不全を改善させることが困難であった¹¹⁾。

塩素ガスを吸入した肺には、前述の肺水腫のほか、無気肺や出血、白血球の遊走などが見られる¹²⁾。これらの所見は、成人呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome, ARDS)

と非常に類似しており、ARDS そのものであると考えるむきも多い⁸⁾。近年、ARDS における呼吸不全の成立機序には肺サーファクタントの異常が関与していると考えられており¹³⁾、経気道的にサーファクタントを補充する治療法 (補充療法) が有効であるという研究結果が報告されはじめている^{14)~19)}。したがって、塩素ガス吸入による呼吸不全にも、本法が有効であろうと想定される。今回、著者は、ラットに 380-500ppm の塩素ガスを吸入させ、PEEP を付加した人工呼吸でも改善不可能な呼吸不全を発症させたうえ、サーファクタント補充療法の効果を生存率、血液ガス、肺組織像などの面から検討した。

対象および方法

1. サーファクタントの調整

実験には、金沢大学麻酔・蘇生学教室で開発された補充療法用サーファクタント (surfactant CK, S-CK) を使用した。S-CK は、ブタの肺洗浄液から、遠心法、クロロホルム/メタノール (2/1, v/v) による抽出法、0.5%食塩水による洗浄法、およびアセトン沈殿法を経て採取し、98%のリン脂質と1%の

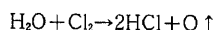
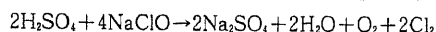
平成5年8月3日受付、平成5年9月16日受理

Abbreviations: ARDS, adult respiratory distress syndrome; FiO₂, fraction of inspiratory oxygen; PaCO₂, arterial carbon dioxide pressure; PaO₂, arterial oxygen pressure; PEEP, positive end-expiratory pressure; PIP, peak inspiratory pressure; P/L, edema fluid protein-to-surfactant lipids; S-CK, surfactant CK

疎水性タンパク質を主成分としたものである²⁰。S-CK をラットに補充する際は、生理食塩水を加え、100mg/ml の濃度の分散液にして使用した。

II. 塩素ガスの作成とその分析

ラットに吸入させた塩素ガスは、49%硫酸 100ml に次亜塩素酸ナトリウムの溶液 (アンチホルミン, 和光純薬, 大阪) を滴下して作成した。この反応は、主として下記のように進行する。



すなわち、2 単位の硫酸と 4 単位の次亜塩素酸ナトリウムから、第一段階の反応として、2 単位の硫酸ナトリウム、水、塩素ガス、および 1 単位の酸素ガスが発生する。次いで、第 2 段階として、発生した塩素ガスの一部と水が反応し、塩酸と発生期の酸素が生ずる。なお、塩素ガスと塩酸の生成量の比は、次亜塩素酸ナトリウムの滴下速度に影響されることが知られている。今回の実験では、生成したガスをガスクロマトグラフィー GC-7A (島津, 京都) を用いて分析し、塩素と塩酸の気体容量比が 85 : 15 前後のものを使用した。

III. 動物実験

成熟ウイスター系ラット (体重 250–350g) 30 匹を実験に供した。ペントバルビタール (30mg/kg) の腹腔内投与により麻酔した後、気管切開孔より挿管し、2 匹のラットを一組にして図 1 に示すような複数の小動物を同一条件で換気できる人工呼吸回路に接続した。人工呼吸器サーボ 900B (Siemens-Elema, Solna, Sweden) を従圧式に設定し、最大吸気圧 (peak inspiratory pressure, PIP) を 20cmH₂O, PEEP を 5cmH₂O に定めた。なお、動物の肺コンプライアンスが変化しても PEEP の値が変動しないように、呼吸回路には容量 10 l の気密のビン (airtight jar) を装着した。実験の全経過を通じ、換気には純酸素を用い、呼吸回数を 40 回/分、吸気と呼気の時間比を 1 : 1 に固定した。

ラットの左股動脈にはカニューレを挿入し、血圧を持続的に監視するとともに血液ガス分析のための採血路にあてた。右股静脈にもカニューレを挿入し、乳酸加リンゲル液 (10ml/kg/hr) を持続的に投与した。また、実験中はペントバルビタール (15mg/kg) の腹腔内間欠投与と、臭化パンクロニウム (0.4mg/kg/hr) の持続静注により、一定の麻酔深度と非動化を保った。動脈血酸素分圧 (arterial oxygen pressure, PaO₂) および炭酸ガス分圧 (arterial carbon dioxide pressure, PaCO₂) などの血液ガス分析は、電極法 ABL 2 (Radiometer, Copenhagen, Denmark) で行った。

人工呼吸を開始して約 20 分後、状態が落ち着いた時点で基準時の血液ガス分析を行った。その後、20ml の注射器に採取した塩素ガスを 210 秒間かけて 5.7ml/min の速度で呼吸回路の吸気側より注入した。その際、人工呼吸回路内の塩素ガス濃度が 380–500ppm になるように注射器内の塩素ガス濃度を調整するとともに、回路内の濃度が所定の範囲内にあることをガス検知管ガステック 8H (ガステック, 横浜) で確認した (図 1)。

塩素ガス吸入終了後 40 分が経過した時点で、気管内吸引を行い、出現した肺水腫液を可及的に除去した。次いで、動脈血ガス分析を行い、その所見を群分け直前値とした。その後、動物を無作為に対照群と治療群に群分けした。すなわち、対照群のラット (n=15) には経気道的に何も投与しなかったが、治療群のラット (n=15) には S-CK (100mg/ml) を 0.5ml あて気道内

に注入するという補充療法を行った。S-CK の注入直後には、人工呼吸器の駆動圧を高めて両群のラットの PIP を 30cmH₂O に上昇させたが、2 分後には元の 20cmH₂O に戻した。なお、気管内吸引で得られた肺水腫液については、量を測定し、その後の分析に備えて凍結保存した。全ての動物について、群分け後 20, 50, 80, 110, 140 分目に動脈血を採取しガス分析を行った。また、一部の動物では、基準時および塩素ガス吸入後 40 分目の時点で胸部レントゲン写真を撮影した。

実験終了後 (塩素ガス吸入終了後 180 分, 群分け後 140 分), 過量のペントバルビタールを静注して動物を屠殺し、開胸したうえで、まず 30cmH₂O の気道内圧を加えて肺を拡張させた。次いで、気道内圧を 10cmH₂O に減じてその圧を保持しながら、肺動脈より 4% 中性ホルマリンを 60 分間還流して肺を固定した。右肺の上, 中, 下葉につき、ヘマトキシリン・エオジンで染色した後、それぞれの矢状断面の 5 点を無作為に選び、光学顕微鏡で観察し、図 2 に示すような A から D の 4 グレード (grade) に分類した。すなわち、グレード A はほぼ正常な肺所見を示すもの、グレード B は肺胞の伸展度が若干低下しており肺間質に少量の白血球の浸潤を認めるもの、グレード C は肺間質に水腫液や多数の白血球の浸潤を認めるもの、グレード D は肺間質および肺胞腔の両者が水腫液や白血球で充満されているものとした。

IV. 肺水腫液の分析

凍結保存した肺水腫液は、解凍後、そのリン脂質濃度を過マンガン塩灰化法 (リン脂質テストワコー, 和光純薬) で測定し、タンパク質濃度をビウレット法 (クリナライザー JCA-MS 24, 日本電子, 東京) で測定した。

V. 統計処理

動脈血液ガスの測定値は平均値 ± 標準偏差 (mean ± S.D.) で表し、群内および群間の差の検定には二元配置分散分析 (ANOVA) を行ったうえで、Tukey-Kramer の方法を用いた。生存率の差の検定には、Kaplan-Meier 法によって実験終了時までの生存曲線を描き、generalized Wilcoxon test を用いた。また、肺組織像の差の検定には、Wilcoxon 順位と検定 (Mann-Whitney U test) を用いた。いずれの検定でも、危険率 (p) が 0.05 以下で有意差ありと判定した。

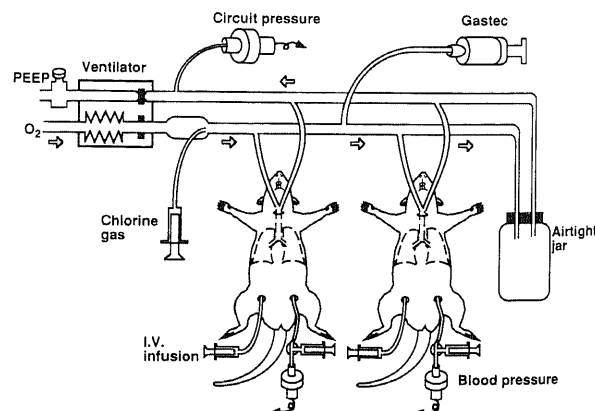


Fig. 1. Diagram of experimental setup. Open arrows indicate direction of oxygen flow. PEEP, positive end-expiratory pressure; Gastec, apparatus for measurement of chlorine gas concentration.

成績

表1に、基準時と塩素ガス吸入40分後(群分け直前)の PaO_2 , PaCO_2 , および採取された肺水腫液量を示す。塩素ガスの吸入によって両群の PaO_2 の平均値は525mmHg前後から102mmHg以下へと有意に低下し、 PaCO_2 の平均値は30mmHg前後から74mmHg以上へと有意に上昇した。なお、

これらの値には両群間に有意差を認めなかった。また、塩素ガス吸入後には、2.5ml/kg 前後の肺水腫液が気道から採取されるようになった。肺水腫液中のリン脂質濃度は平均値で0.8mg/ml (対照群 0.9 ± 0.1 mg/ml, 治療群 0.7 ± 0.2 mg/ml, 群間有意差なし)であり、タンパク質濃度は平均値で33.0mg/ml (対照群 33.5 ± 4.0 mg/ml, 治療群 32.5 ± 3.5 mg/ml, 群間有意差なし)であった。胸部レントゲン撮影を行った全ての動物では、

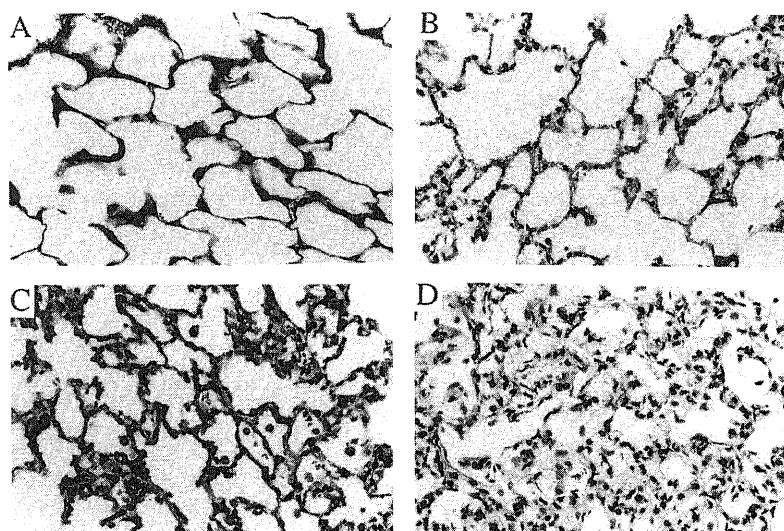


Fig. 2. Histological classification of the lung in the rats following chlorine gas exposure (hematoxylin-eosin staining, $\times 40$). A (grade A), findings of the alveoli are almost normal; B (grade B), alveolar size is somewhat small and a few leukocytes are present in the interstitial tissues; C (grade C), alveolar size is small and moderate migration of leukocytes are seen in the interstitial tissues and alveolar spaces; D (grade D), the alveoli are almost destructed and severe invasion of leukocytes is existing.

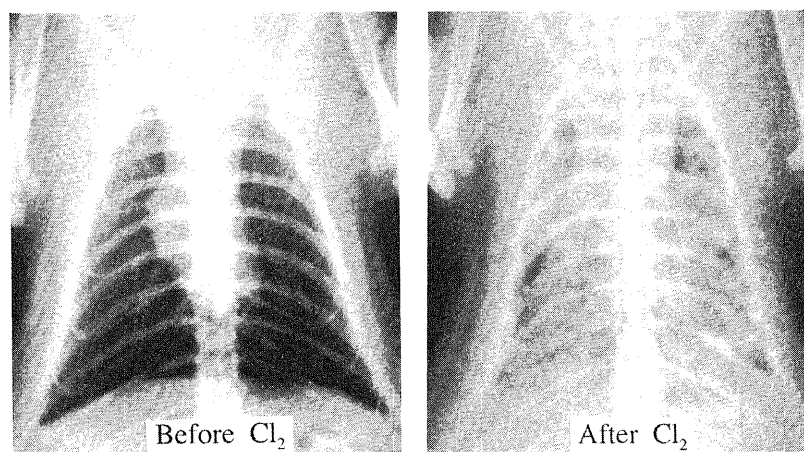


Fig. 3. Chest roentgenograms of a rat taken before (left) and after (right) chlorine gas exposure.

Table 1. Arterial blood gas values and amount of lung edema fluid before and 40 min after chlorine gas exposure

Time	PaO_2 (mmHg)		PaCO_2 (mmHg)		Lung edema fluid (ml/kg)	
	Control	Treated	Control	Treated	Control	Treated
Before chlorine gas	521 ± 36	530 ± 45	30 ± 4	29 ± 4	none	none
After chlorine gas	96 ± 34^a	102 ± 37^a	79 ± 24^a	74 ± 25^a	2.4 ± 1.7	2.5 ± 2.4

Values are means \pm S.D. ^a $P < 0.01$ vs. the values before chlorine gas exposure. Each group consists of 15 rats.

塩素ガス吸入後、肺野全体に瀰慢性陰影が出現した(図3)。

両群の生存曲線を図4に示す。塩素ガス吸入後40分目(群分け直前)までは、全ての動物が生存した。しかし、群分け5分後から死亡する動物が出はじめ、対照群における実験終了時の生存率は27%弱(4/15)であった。一方、治療群における実験終了時の生存率は80%(12/15)であり、群分けから実験終了時までの生存率には両群間に有意差が認められた。さらに、治療群の中で死亡した動物でも、同一実験で一組にし、同一濃度の塩素ガスを吸入させた対照群の動物より早期に死亡したものはいなかった。

群分け直前および群分け後の PaO_2 の経時的变化を図5に示す。140分の観察中、対照群の PaO_2 の平均値は 90mmHg 以下にとどまっており、有意な変化を示さなかった。一方、治療群の PaO_2 の平均値は、サーファクタント投与により上昇する傾向を示し、80分目以降は対照群より有意に高く、群分け直前の値に対しても有意差を示すようになった。

群分け直前および群分け後の PaCO_2 の経時的变化を図6に示す。対照群では、この期間中、 PaCO_2 の有意な変化が認められなかった。一方、サーファクタントを投与した治療群の

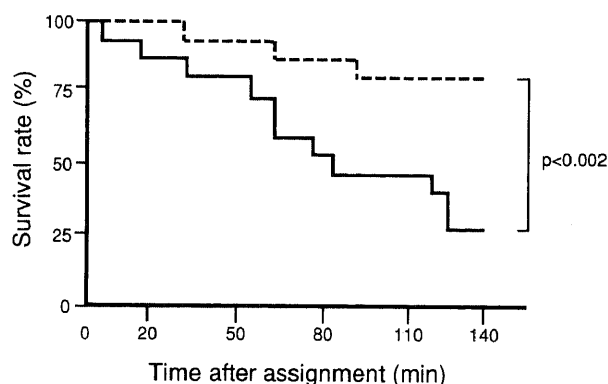


Fig. 4. Survival curves of the rats in the control and treated groups. Surfactant replacement was performed at zero time. —, control group; ----, treated group.

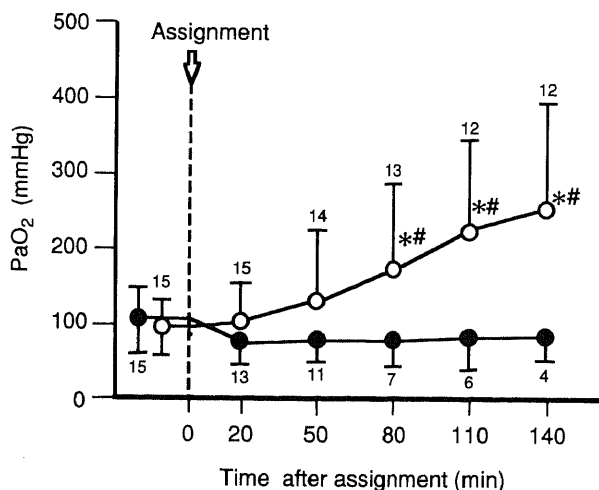


Fig. 5. Sequential PaO_2 values just before and after assignment. Values are means \pm S.D. # $p < 0.05$ vs. control group, * $p < 0.05$ vs. the values just before the assignment (40 min after chlorine gas exposure). Figures on each standard deviation bar indicate number of the animals. ●, control group; ○, treated group.

PaCO_2 の平均値は、時間の経過とともに低下する傾向を示し、群分け110分目から治療前に比べて有意に低値を示し、実験終了時には 54 ± 29 mmHg にまで改善した。しかし、群間の有意差は認められなかった。

肺組織像の分類結果を図7に示す。対照群ではグレードCが一番多く(45.0%)、次いでB(35.0%)、D(17.5%)、A(2.5%)の順であった。一方、治療群ではグレードBが一番多く(45.0%)、次いでC(27.5%)、A(25.0%)、D(2.5%)の順であり、グレード分類による両群の差は有意($p < 0.001$)であった。

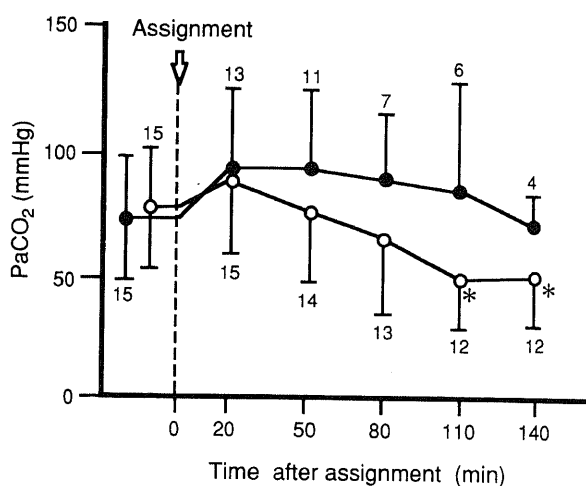


Fig. 6. Sequential PaCO_2 values just before and after assignment. Values are means \pm S.D. * $p < 0.05$ vs. the values just before the assignment (40 min after chlorine gas exposure). Figures on each standard deviation bar indicate number of the animals. ●, control group; ○, treated group.

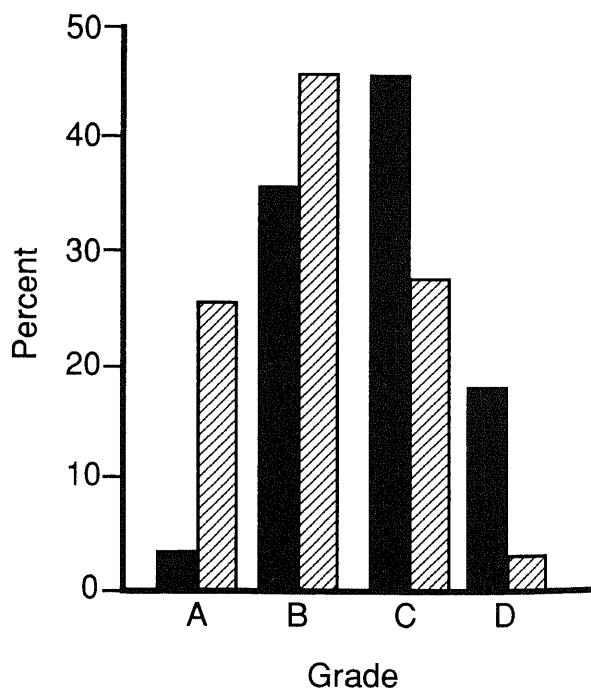


Fig. 7. Percents of lung histological findings classified into the grades A, B, C and D. ■, control group; ▨, treated group.

考 察

今回の実験で、塩素 (380-500ppm) と塩酸 (67-88ppm) の混合ガスを210秒間ラットに吸入させた結果、PEEP を付加した人工呼吸でも改善不可能な低酸素血症や高炭酸ガス血症が発生し、40分後には 2.5ml/kg 前後の肺水腫液が気道内から採取されるようになった。また、レントゲン写真では肺野に慢性陰影が出現した。しかし、サーファクタント補充療法により上記の所見は有意に好転し、肺組織や生存率も非治療群 (対照群) に比べ有意に良好な所見を示すようになった。

塩素ガスを吸入した場合、その直接作用として、気管・気管支の収縮と肺組織の腐食が生ずる²¹⁾。一方、塩素ガスの一部は、気道の水と反応して塩酸や活性酸素を含む種々の不安定な物質に変わり、これらも肺機能や肺組織を障害することが知られている²²⁾。したがって、塩素ガスそのものによる変化と、二次生成物による変化を厳密に区別することは困難である。今回の実験でラットに吸入させたガスの中には塩酸が含まれており、純粋な塩素ガスを吸入した場合の変化とは若干異なっている可能性を否定できない。しかし、二次生成物として塩酸が生ずること、および塩素ガスが呼吸器系に与える障害は塩酸ガスより約20倍強力であるという報告¹⁹⁾を考え合わせると、本実験で見られたラットの肺の変化は、塩素ガスのみを吸入した場合にほぼ近いものと推察される。

前述したように、塩素ガスを吸入した際におこる肺の変化は、ARDS の所見に一致するとみなされている。ARDS の診断基準として現在使用されている項目は、(1)敗血症、ショック、多発外傷、誤嚥、有害ガスの吸入、広範囲熱傷などに続発する肺障害であること、(2)吸気中の酸素濃度 (fraction of inspiratory oxygen, FiO_2) を高めても低酸素血症が改善できないこと ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 150\text{mmHg}$)、(3)胸部レントゲン像で慢性陰影が認められること、(4)肺水腫が認められること、および(5)肺コンプライアンスが低下していることなどである²³⁻²⁵⁾。今回の実験では、肺コンプライアンスを測定していないが、その他の所見は、上記の診断基準を満たしている。また、対照群の肺組織所見で、鏡検した視野の97.5%にあたるものが正常状態に比べて肺胞腔が小さいグレードB、CおよびDに分類された。このことは、肺を 30cmH₂O で加圧していったん拡張させたのち、10cmH₂O に減圧してその圧を保持しながら固定したという操作から考えて、肺コンプライアンスが低下していることを示唆していよう。したがって、今回の実験で見られたラットの所見は、ARDS に一致するとみなして間違いないものと考えられる。

一般に、ARDS では、有害刺激によって活性化された白血球が肺に集積し、それから放出される活性酸素やエラスターゼをはじめとするタンパク分解酵素が、肺胞および毛細血管の透過性を亢進させると言われている²⁶⁾。その結果、ARDS では、タンパク質に富んだ肺水腫液が発生することになる。今回の実験でも、肺組織所見でグレードB、CおよびDに分類されるものには、白血球の遊走が認められた。加えて、塩素ガスは、前述したように、組織の水と反応して直接に活性酸素を生ずるので吸入直後から肺水腫液が出現する¹⁹⁾。肺水腫液の出現による肺胞スペースの減少や気道閉塞は、呼吸不全の一因になるであろう。しかし、ARDS における呼吸不全の発生機序として、肺水腫液によりサーファクタントの機能が障害されるという問題が、最近とみに注目されはじめています。

肺サーファクタントは、リン脂質を主成分として、肺胞被覆層 (肺胞表面を覆っている液体の層) の表面張力を低下させて肺胞の収縮力を弱め、無気肺が生ずるのを防止している物質である。仮に、肺サーファクタントが全く欠如していると仮定した場合、35cmH₂O 以上の肺胞内外差 (transpulmonary pressure) がなければ、肺胞は虚脱してしまうと計算されている²⁷⁾。したがって、サーファクタントの減少ないし活性低下は、すぐさま呼吸不全につながることになる。

肺水腫液が出現した場合にサーファクタントが障害される機序として、サーファクタントの希釈という問題を先ず挙げることが出来る。サーファクタントの主成分であるリン脂質を指標とした場合、その濃度が 3mg/ml 以下になると、サーファクタントとしての生理的作用が出現しなくなると言われている²⁸⁾。今回の実験では、塩素ガスを吸入した後40分目の時点で、2.5ml/kg 前後の肺水腫液が気道内吸引により採取された。また、その液中のリン脂質濃度平均値は 0.8mg/ml であった。すなわち、今回の肺水腫液中のリン脂質が全て肺サーファクタントに由来するものであったと仮定しても、サーファクタントとしての生理的作用が期待できる濃度ではない。今回の実験におけるラットの肺胞表面は、気道から採取された肺水腫液とほぼ同じもので被覆されていると考えられる。したがって、大量の肺水腫液が出現した場合、サーファクタントの希釈という点だけから考えても、重篤な呼吸不全が生じて不思議ではない。

さらに、血漿中のアルブミンやフィブリノーゲンは、肺サーファクタントの活性を強く阻害することが知られている²⁹⁻³²⁾。新多³²⁾は、肺水腫液が存在する場合、その中のタンパク質 (protein, P) とサーファクタント脂質 (surfactant lipids, L) の濃度比 (protein-to-surfactant lipids 比, P/L 比) が5.6以下でないと、サーファクタントはその生理的機能が発揮できないと報告している。今回の実験で、ラットの気管から採取された肺水腫液のタンパク質濃度は 33mg/ml 前後であった。すなわち、本肺水腫液の P/L 比は、少なくとも 41 (33/0.8) 以上と計算される。したがって、サーファクタントが不活化されている状態であると考えられ、重篤な呼吸不全が発生して当然であると思われる。

肺水腫液が出現してサーファクタントが希釈されたり不活化した場合、PIP を高めたり PEEP を付加した人工呼吸を行って、肺胞の虚脱を防ぐという対処方法が考えられる。事実、ARDS の患者管理に際し、PEEP を付加した人工呼吸により、虚脱した肺胞が再び含気を保つようになり、肺内シャントが減少して、 PaO_2 が上昇したという報告は多い³³⁻³⁵⁾。しかし、今回の実験では、PIP を 20cmH₂O、PEEP を 5cmH₂O に設定した人工呼吸を行っても、対照群では $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ が 90mmHg 以下であり、73% (11/15) の動物が塩素ガス吸入後180分以内に死亡した。PIP や PEEP をさらに高めた場合の結果については今後の検討を要するが、塩素ガスを吸入した患者、ひいては肺水腫液が多量に出現した ARDS の患者に対し、人工呼吸法のみで対処するには限界があることを今回の実験結果は示唆していると言えよう。

呼吸不全が肺サーファクタントの異常に基づくものであれば、その異常を是正すれば良いことになる。このような考察に基づき塩素ガスを吸入させたラットに、サーファクタント補充療法を行った結果、前述したような治療効果が認められた。しかし、 PaO_2 が上昇して対照群との間に有意差が認められるよ

うになるまでには80分間を要し、補充療法を行った動物でも20% (3/15) が死亡した。肺洗浄やエンドトキシンの気管内注入によって低酸素血症を来した動物に対し、今回の実験で使用したと同じサーファクタント (S-CK) を補充すると、瞬時 (15分以内) にして PaO_2 が回復することを著者らは確認している³⁶⁾³⁷⁾。また、新生児呼吸窮迫症の患児でも、硝子膜が形成されていない早期では、S-CK を補充すると30分以内に PaO_2 が上昇する³⁸⁾³⁹⁾。これらのことを考え合すと、塩素ガス吸入後の呼吸不全には、サーファクタント以外の因子も大きく関与しており、これらの対策も必要なことが示唆される。

ARDSにおける低酸素血症には、肺水腫やサーファクタントの異常に基づくもの以外に、微小血栓や血管内皮細胞の肥厚などによる肺循環障害が関与している¹⁰⁾⁴⁰⁾。また、肺の換気・血流のバランスを保つ機構 (hypoxic pulmonary vasoconstriction) が障害されることも知られている¹⁰⁾。さらに、肺胞腔内に硝子膜が形成されれば、ガス交換が障害されるであろう⁴⁰⁾。塩素ガス吸入後にも同様の変化が生ずると報告されているが⁸⁾¹²⁾、これらの低酸素血症を来す機序に対して、サーファクタント補充療法が治療効果を示すとは考え難い。加えて、塩素ガスを吸入した際には、前述したように気管・気管支が強く収縮するが²¹⁾、これに対しても補充療法に多大の効果を期待することは無理であろう。今回の実験は、サーファクタントに焦点を絞ったものである。しかし、ヘパリンを投与して微小血栓を防止したり、気管支拡張薬を投与したりすれば、治療成績をさらに高めることができた可能性はあったと考えられる。

今回の実験結果は、塩素ガス吸入により呼吸不全が生ずる機序として、肺サーファクタントの障害が関与していることを証明するものであろう。単純なサーファクタントの欠如状態でも、放置すれば肺組織の広範な破壊につながる事が知られている⁴¹⁾。今回の実験結果は、塩素ガス吸入後の呼吸不全、ひいてはARDSの患者に対してサーファクタント補充療法を行えば、肺組織の破壊が減ることを示唆するものであろう。今後、サーファクタントの投与方法やその際の人工呼吸法、さらには抗原性のない人工サーファクタントの開発など、補充療法の実用化を目指した研究が進められることを期待したい。

結 論

ラットに380-500ppmの塩素ガスを210秒間吸入させて呼吸不全を発症させたうえ、サーファクタントの補充療法を行ってその効果を検討し、以下の結論を得た。

1. 塩素ガスを吸入すると、低酸素血症や肺水腫を伴った急性呼吸不全が生ずる。この呼吸不全はARDSに類似しており、PEEPを付加した人工呼吸などの従来の治療法では症状を改善させることが困難な場合がある。

2. 塩素ガス吸入後に呼吸不全が発症する機序には、肺水腫液によるサーファクタントの希釈と不活化が関与していると考えられる。

3. 塩素ガス吸入による呼吸不全に対してサーファクタント補充療法を行うと、 PaO_2 や PaCO_2 などの血液ガス所見、および生存率が好転する。また、肺組織が破壊される程度も減少する。

4. 塩素ガス吸入などにより発生したARDSに対して、サーファクタント補充療法は治療効果を示すと考えられる。しかし、血栓形成や血管内皮細胞の肥厚などの病変に対しては、そ

れぞれに個別の対策を検討する必要がある。

謝 辞

稿を終えるにあたり、直接御指導と御校閲をいただいた小林 勉教授に深く感謝いたします。また、実験に御協力いただいた麻酔・蘇生学教室の諸先生と実験助手の方々に深謝いたします。なお、本研究は昭和63年度日本医師会医学研究助成費、米沢研究基金および文部省科学研究費 (一般研究B, 課題番号02454352) の援助を受けたことを付記し、謝意を表します。

本論文の要旨は第10回日本蘇生学会 (高知) において発表した。

文 献

- 1) Hasan, F. M., Gehshan, A. & Fuleihan, F. J. D.: Resolution of pulmonary dysfunction following acute chlorine exposure. *Arch. Environ. Health*, 38, 76-80 (1983).
- 2) Henderson, Y. & Haggard, H. W.: Noxious Gases and the Principles of Respiration Influencing Their Action, 1st ed., p110-140, Reinhold Publishing Corp., New York, 1943.
- 3) Salisbury, D. A., Enarson, D. A., Chan, Y. M. & Kennedy, S. M.: First-aid reports of acute chlorine gassing among pulp mill workers as predictors of lung health consequences. *Am. J. Ind. Med.*, 20, 71-81 (1991).
- 4) Vinsel, P. J.: Treatment of acute chlorine gas inhalation with nebulized sodium bicarbonate. *J. Emerg. Med.*, 8, 327-329 (1990).
- 5) Pherwani, A. V., Khanna, S. A. & Patel, R. B.: Effect of chlorine gas leak on the pulmonary functions of school children. *Indian J. Pediatr.*, 56, 125-128 (1989).
- 6) Lawson, J. J.: Chlorine exposure: a challenge to the physician. *Am. Fam. Phys.*, 23, 135-138 (1981).
- 7) 柴田達彦, 宮崎忠昭, 小田切徹太郎: 家庭用洗剤混用で発生した塩素ガス吸入によると思われる急性呼吸不全の1例 (抄録). *蘇生*, 8, 79 (1990).
- 8) Chester, E. H., Kaimal, P. J., Payne, C. B. Jr. & Kohn, P. M.: Pulmonary injury following exposure to chlorine gas. *Chest*, 72, 247-250 (1977).
- 9) Edwards, I. R., Temple, W. A. & Dobbinson, T. L.: Acute chlorine poisoning from a high school experiment. *NZ. Med. J.*, 96, 720-721 (1983).
- 10) Heidemann, S. M. & Goetting, M. G.: Treatment of acute hypoxemic respiratory failure caused by chlorine exposure. *Pediatr. Emerg. Care*, 7, 87-88 (1991).
- 11) 李 文志, 小林 勉, 谷口淳朗, 高橋麗子, 新多恵子, 村上誠一: 塩素ガスを吸入させたラットの人工呼吸下における血液ガスおよび生存率: 濃度と吸入時間について. *北陸麻酔誌*, 25, 35-40 (1991).
- 12) Adelson, L. & Kaufman, J.: Fatal chlorine poisoning: Report of two cases with clinicopathologic correlation. *Am. J. Clin. Path.*, 56, 430-442 (1971).
- 13) Lachmann, B., Hallman, M. & Bergmann, K. C.: Respiratory failure following anti-lung serum: study on mechanisms associated with surfactant system damage. *Exp. Lung Res.*, 12, 163-180 (1987).
- 14) Richman, P. S., Spragg, R. G., Robertson, B.,

- Merritt, T. A. & Curstedt, T.: The adult respiratory distress syndrome: first trials with surfactant replacement. *Eur. Respir. J.*, 2, 109s-111s (1989).
- 15) Holm, B. A. & Matalon, S.: Role of pulmonary surfactant in the development and treatment of adult respiratory distress syndrome. *Anesth. Analg.*, 69, 805-818 (1989).
- 16) Hallman, M.: Lung surfactant in respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 35, 15-21 (1991).
- 17) Robertson, B.: Surfactant inactivation and surfactant replacement in experimental models of ARDS. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 35, 22-28 (1991).
- 18) Stubbig, K., Schmidt, H., Bohrer, H., Huster, T., Bach, A. & Motsch, J.: Surfactant administration in acute respiratory failure. *Anaesthesist*, 41, 555-558 (1992).
- 19) 野坂修一, 吉川 清, 堺登志子, 米倉雅之, 赤神宏尚, 柴田宣彦: 成人呼吸不全に対し人工肺表面活性物質が投与された1症例. *日界面医誌*, 21, 142-148 (1990).
- 20) 高田善則, 小林 勉, 片岡久範, 村上誠一, 小久保雅之: 肺サーファクタント由来物質の表面活性に対する温度と湿度の影響. *日界面医誌*, 13, 128-134 (1982).
- 21) 栄 博史, 田伏久之: 中毒の新しい治療指針: その他の有毒ガス. *救急医学*, 12, 1261-1268 (1988).
- 22) Fowler, A. A., Hamman, R. F., Good, J. T., Benson, K. N., Baird, M., Eberle, D. J., Petty, T. L. & Hyers, T. M.: Adult respiratory distress syndrome: risk with common predispositions. *Ann. Intern. Med.*, 98, 593-597 (1983).
- 23) Fein, A. M., Lippmann, M., Holtzmann, H., Eliraz, A. & Goldberg, S. K.: The risk factors, incidence, and prognosis of ARDS following septicemia. *Chest*, 83, 40-42 (1983).
- 24) Shale, D. J.: The adult respiratory distress syndrome: 20 years on. *Thorax*, 42, 641-645 (1987).
- 25) Van Daal, G. J., So, K. L., Gommers, D., Eijking, E. P., Fievez, R. B., Sprenger, M. J., Van Dam, D. W. & Lachmann, B.: Intratracheal surfactant administration restores gas exchange in experimental adult respiratory distress syndrome associated with viral pneumonia. *Anesth. Analg.*, 72, 589-595 (1991).
- 26) Neuhof, H.: Action and interactions of mediator system and mediators in the pathogenesis of ARDS and multiorgan failure. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 35, 7-14 (1991).
- 27) 小林 勉, 田代勝己, 李 文志: 肺サーファクタント: その異常が関与する病態. *人工呼吸*, 9, 95-100 (1992).
- 28) Kobayashi, T., Shido, A., Nitta, K., Inui, S., Ganzuka, M. & Robertson, B.: The critical concentration of surfactant in fetal lung liquid at birth. *Respir. Physiol.*, 80, 181-192 (1990).
- 29) Holm, B. A., Notter, R. H. & Finkelstein, J. N.: Surface property changes from interactions of albumin with natural lung surfactant and extracted lung lipids. *Chem. Phys. Lipids*, 38, 287-298 (1985).
- 30) Seeger, W., Stöhr, G., Wolf, H. R. D. & Neuhof, H.: Alteration of surfactant function due to protein leakage: special interaction with fibrin monomer. *J. Appl. Physiol.*, 58, 326-338 (1985).
- 31) Taylor, F. B. & Abrams, M. E.: Effect of surface active lipoprotein on clotting and fibrinolysis, and of fibrinogen on surface tension of surface active lipoprotein. *Am. J. Med.*, 40, 346-350 (1966).
- 32) 新多恵子: 肺水腫液がサーファクタント活性を介して換気能におよぼす影響: ウサギ未熟胎仔による検討. *十全医会誌*, 100, 1070-1084 (1991).
- 33) Gattinoni, L., Pesenti, A., Bombino, M., Baglioni, S., Rivolta, M., Rossi, F., Rossi, G., Fumagalli, R., Marcolin, R., Mascheroni, D. & Torresin, A.: Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology*, 69, 824-832 (1988).
- 34) Holzoapfel, L., Robert, D., Perrin, F., Blanc, P. L., Palmier, B. & Guerin, C.: Static pressure-volume curves and effect positive end-expiratory pressure on gas exchange in adult respiratory distress syndrome. *Crit. Care Med.*, 11, 591-597 (1983).
- 35) Matamis, D., Lemaire, F., Harf, A., Brun-Buisson, C., Ansquer, J. C. & Atlan, G.: Total respiratory pressure-volume curves in the adult respiratory distress syndrome. *Chest*, 86, 58-66 (1984).
- 36) Li, W-Z., Chen, W-M. & Kobayashi, T.: Aerosolized surfactant reverses respiratory failure in lung-lavaged rats. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 37, (in press) (1993).
- 37) 田代勝己, 李 文志, 新多恵子, 紫藤明美, 小林 勉: エンドトキシンにより呼吸不全を呈したラットに対する肺サーファクタント補充療法の効果. *日界面医誌*, 24, 印刷中 (1993).
- 38) 太田 明, 村松和彦, 小田禎一: 新生児の呼吸窮迫症候群 (RDS) における人工 surfactant (Surfactant CK) の使用経験. *日界面医誌*, 12, 33-39 (1981).
- 39) 小林 勉, 片岡久範, 村上誠一, 春木伸一: 試作サーファクタント (Surfactant CK) による新生児呼吸窮迫症候群の治療経験. *日界面医誌*, 12, 1-6 (1981).
- 40) Lachmann, B.: Animal models and clinical pilot studies of surfactant replacement in adult respiratory distress syndrome. *Eur. Respir. J.*, 2, 98s-103s (1989).
- 41) Lachmann, B., Robertson, B. & Vohel, J.: In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 24, 231-236 (1980).

Surfactant Replacement for Respiratory Failure Induced by Chlorine Gas Exposure in Rats Wen-Zhi Li,
Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-J,
Juzen Med Soc., 102, 597-604 (1993)

Key words chlorine gas, respiratory failure, adult respiratory distress syndrome, positive end-expiratory pressure, surfactant replacement

Abstract

The effects of surfactant replacement on respiratory failure induced by chlorine gas exposure were studied in 30 adult rats weighing 250-350 g. Each animal was anesthetized with an intraperitoneal injection of pentobarbital and intubated through a tracheotomy. They were mechanically ventilated with pure oxygen. The peak inspiratory pressure was set at 20 cmH₂O, and the positive end-expiratory pressure at 5 cmH₂O. Then they were exposed to 380-500 ppm chlorine gas for 210 sec. Forty min after the exposure, the animals developed severe respiratory failure similar to adult respiratory distress syndrome (ARDS); the arterial blood oxygen pressure (PaO₂) values decreased from 525±41 mmHg (mean±S.D.) to 99±36 mmHg ($p<0.05$), and 2.5±2.0 ml/kg of lung edema fluid appeared in the airway. At this time, the animals were randomly assigned to a control or treated group. In the control group ($n=15$), no treatment was performed, and the mean PaO₂ values remained below 90 mmHg until the end of the experiment (140 mins after assignment). In the treated group ($n=15$), surfactant replacement was performed; 0.5 ml of a modified natural surfactant (surfactant CK) that was extracted from pig lungs and suspended in physiological saline at a concentration of 100 mg/ml was instilled into the trachea. The PaO₂ values of the treated group increased with time, showing significant differences ($p<0.05$) from those of the control group 80 min after the assignment, and the value 140 min after the assignment reached 253±141 mmHg. Only 4 of 15 animals survived in the control group, but 12 of 15 animals survived in the treated group; survival rates between the two groups were significantly different ($p<0.002$). Histological examination of the lung revealed that aeration of the alveoli was better and migration of leukocytes was less in the treated group than in the control group ($p<0.001$). From these results, it was concluded that chlorine gas exposure in rats induces respiratory failure similar to ARDS, and that surfactant replacement improves the blood gas findings and survival rate with reducing deteriorations of the lung structure.